



TITLE:

Ureaplasma urealyticumと精子に関する研究 化学療法前・後における精子形態の比較一

AUTHOR(S):

岡田, 弘; 岡, 伸俊; 川端, 岳; 浜口, 毅樹; 荒川, 創一;
羽間, 稔; 松本, 修; 片岡, 陳正; 守殿, 貞夫; 石神, 襄次

CITATION:

岡田, 弘 ...[et al]. Ureaplasma urealyticumと精子に関する研究 化学療法前・後における精子形態の比較一. 泌尿器科紀要 1984, 30(10): 1433-1438

ISSUE DATE:

1984-10

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/118302>

RIGHT:

Ureaplasma urealyticum と精子に関する研究

—化学療法前・後における精子形態の比較—

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神襄次教授）

岡田 弘・岡 伸俊・川端 岳・浜口 毅樹

荒川 創一・羽間 稔・松本 修・片岡 陳正

守殿 貞夫・石神 襄次

A STUDY ON *UREAPLASMA UREALYTICUM* AND SPERM—COMPARISON OF SPERM MORPHOLOGY BEFORE
AND AFTER CHEMOTHERAPY—Hiroshi OKADA, Nobutoshi OKA, Gaku KAWABATA, Takeki HAMAGUCHI,
Soichi ARAKAWA, Minoru HAZAMA, Osamu MATSUMOTO, Nobumasa KATAOKA,
Sadao KAMIDONO, and Joji ISHIGAMI

From the Department of Urology, Kobe University, School of Medicine

Spermogram (morphology of sperm heads and tails) was evaluated in 21 men visiting our infertility clinic before and after the eradication of genital infection with *Ureaplasma urealyticum*.

The percentage of coiled tails and fuzzy granular tails were decreased after eradication of *Ureaplasma* but there were no significant changes in the morphologic characteristics of sperm heads.

Spermogram was also analysed in 5 men who were unsuccessfully treated for genital *Ureaplasma* infection. In this group there were no significant changes in the morphologic characteristics of sperm heads and tails before and after chemotherapy.

Key words: *Ureaplasma urealyticum*, Sperm morphology, Infertility, Chemotherapy

緒 言

Gnarpe¹¹⁾ や Friberg ら¹²⁾ は不妊夫婦の精液および陰分泌中に T-mycoplasma (*Ureaplasma urealyticum*, 以下 *Ureaplasma* と称する) が高率に検出されることを初めて報告した。それ以降, 精液中または陰分泌液中の *Ureaplasma* の分離率²⁾あるいは *Ureaplasma* の精子形態に対する影響など³⁾, 不妊と *Ureaplasma* の関連性¹⁾について多くの報告¹⁰⁾ がみられるが, いまだ不妊における病原性については一致した見解が得られていない。^{13,14)}

著者は, *Ureaplasma* の感染が精子形態に及ぼす影響を及ぼすかを調べるため, *Ureaplasma* 陽性症例に対して化学療法をおこない各症例ごとに *Ureaplasma* 陽性時と陰性時の精子頭部および尾部の形態

を検討したので報告する。

実 験 方 法

その概略が Fig. 1 に示されている。男子不妊外来患者の精液中 *Ureaplasma* を後述の方法により検索し, *Ureaplasma* 陽性例に対して, まずその精子頭部および尾部の形態学的観察をおこなった。ついで, この精液中 *Ureaplasma* 陽性症例の夫婦に対して, 夫はもちろんその配偶者にも Minocycline (MINO) または Doxycycline (DOXY) 100 mg/day を28日間連続投与し, 化学療法終了直後と終了3ヵ月目に精液中の *Ureaplasma* を検索した。化学療法有効例および無効例ともに MINO または DOXY の精子形成過程への影響を考慮して, 前述のごとく化学療法終了後3ヵ月目に精子の形態学的検索がおこなわれた。し

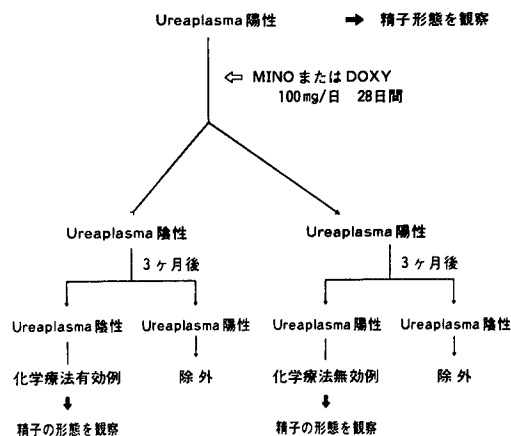


Fig. 1. 実験の概略

かし、精液中 Ureaplasma が化学療法終了時に陰性の症例で3カ月以内に再度陽性となった症例や、逆に化学療法終了時に陽性の症例で自然治癒した症例は、今回の研究対象から除外された (Fig. 1)。また, varicocele testis が存在するものや、ホルモン療法中のものも対象から除外された。正常対照は、過去1年以内に子供が生まれたか、もしくは妻が妊娠中の fertile male のうち varicocele testis などがなく精液中に Ureaplasma が陰性であった11例で、同様に精子形態が検討された。

精子形態の観察法と Ureaplasma の検出方法

その概略が Fig. 2 に示されている。用手法にて精液を滅菌シャーレ中に採取し30分間室温 (約25℃) で静置して液化させた。この精液の一部 (約 100 μ l) を Taylor-Robinson の液体培地 (組成は Table 1) 中に入れ 37℃ 恒温環境下で48時間嫌気培養し、培養液が赤変することによって Ureaplasma の有無が判定された。また別に、残りの精液を生理食塩水で2回洗浄、洗浄精子とした。これをスライドガラス上に塗抹、半乾燥期にエタノール・エーテル中で固定後 Papanicolaou 染色し、キシレンで透徹後 resin とカバーガラスで封入し永久標本が作製された。1,000倍油浸レンズ下に写真撮影された染色標本のフィルムが拡大映写され、1症例につき200~500精子の頭部および尾部の形態が観察された。精子形態 (Table 2) は、頭部に関しては Macleod ら⁴⁾ の分類に round form を加えた oval, round, large, small, tapering, amorphous, double head および immature の8種類に分類された。精子尾部に関しては、Toth ら⁷⁾ が

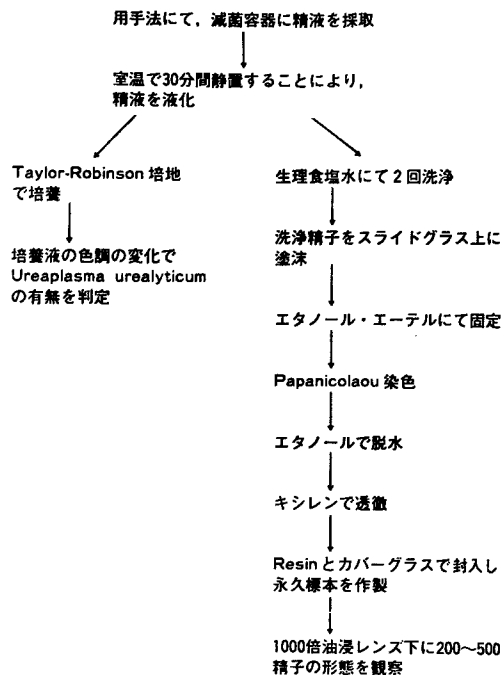


Fig. 2. 精子形態の観察方法と Ureaplasma の検出法

Table 1. Taylor-Robinson 培地

PPLO broth w/o cv	3.0 g
dist. water	140 ml
Horse Serum	40 ml
25% Yeast Extract	20 ml
10% Urea	2 ml
0.5% P.R.	0.8 ml
PC-G	20×10 ⁴ unit
2.5% 酢酸タリウム	2 ml
conc. HCl	3~4 滴
pH. 6.0±0.5, 5% CO ₂ +95% N ₂ GAS	

Ureaplasma 陽性精子に 特異的に出現率が高まると報告している coiled tail と fuzzy granular tail が観察された。coiled tail は精子尾部が輪状になるか、あるいは、頸部が折れたようになっているものとし、fuzzy granular tail は精子尾部が毛羽立っていたり、緑色の無構造の顆粒状物を付着しているものとした。

結 果

1. fertile male の精子形態について

正常対照 fertile male の精子頭部の形態 (Table 2) は、精子の正常形とされる oval form が約 70 % と諸家の報告^{4,18)}と一致していた。しかし、tapering form に関しては、12.7%と他の報告者より高率であった。尾部の coiled tail および fuzzy granular tail の検出率 (Table 2) はそれぞれ14.7%および9.4%であった。

2. 化学療法有効例の精子形態について

Table 2. fertile male における精子の形態的平均検出率

1 精子頭部

項目	特徴	検出率
oval	large, small の中間で卵円形の精子	70.0 %
round	頭部が球形の精子	0.83 %
large	頭部の長さ6.3 μ m 以上, 幅4.2 μ m 以上の精子	0.1 %
small	頭部の長さ2.7 μ m 以下, 幅1.8 μ m 以下の精子	0.3 %
tapering	先細で尖っている精子	12.7 %
amorphous	頭部の輪郭が著しく異常な精子	15.8 %
double head	頭部が2つ有る精子	0.6 %
immature	精子の前段階のもの	1.6 %

2. 精子尾部

項目	特徴	検出率
coiled	精子尾部が輪状になっているもの	14.7 %
fuzzy granular	精子尾部が毛羽立ったり、顆粒の付着しているもの	9.4 %

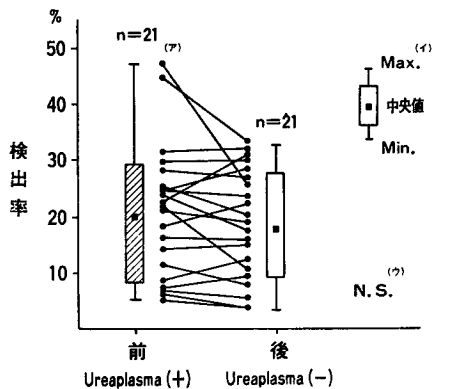


Fig. 3. 化学療法前後における精子頭部の形態学的変化: tapering form 検出率
—化学療法有効例—

化学療法後 Ureaplasma が陰性化した21例の治療前後における精子頭部 tapering form の検出率 (Fig. 3) に有意差は認められなかった。また、治療前後に

Table 3. 化学療法前後における精子頭部の形態別検出率 —化学療法有効例—

形態	形態別検出率	
	化学療法前 平均値 \pm s.d. %	化学療法後 平均値 \pm s.d. %
oval	56.5 \pm 15 %	58.2 \pm 12 %
round	0.6 \pm 0.2 %	0.7 \pm 0.3 %
large	0.1 \pm 0.02 %	0.1 \pm 0.05 %
small	0.5 \pm 0.1 %	0.4 \pm 0.1 %
amorphous	20.3 \pm 2.4 %	18.6 \pm 3.2 %
double head	0.5 \pm 0.1 %	0.5 \pm 0.1 %
immature	2.0 \pm 0.4 %	1.8 \pm 0.3 %

N.S.

推計学的考察: Wilcoxon signed rank test

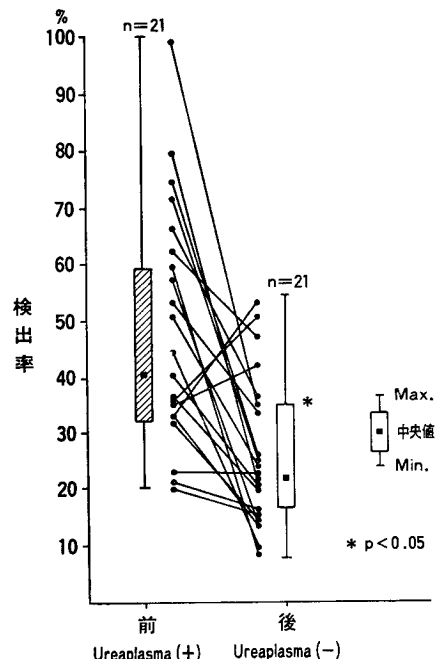


Fig. 4. 化学療法前後における精子尾部の形態学的変化: coiled tail 検出率
—化学療法有効例—

おける他の精子頭部形態の検出率 (Table 3) にも差は見られなかった. 精子尾部 coiled tail の検出率 (Fig. 4) は, Ureaplasma 陽性時の方が陰性時よりも有意に高かった. また, fuzzy granular tail の検出率 (Fig. 5) も Ureaplasma 陽性時の方が有意に高かった.

3. 化学療法無効例の精子形態について

化学療法が無効であった5例の精子頭部 tapering form の検出率 (Fig. 6) は fertile male におけるよりは高率であったが, 治療前後に有意差は認められなかった. 他の精子頭部の形態の検出率 (Table 4) にも治療前後で有意差はなかった. 精子尾部の coiled tail と fuzzy granular tail の検出率は fertile male におけるよりも高かったが, 治療前後に有意差は認め

られなかった (Fig. 7, 8).

4. Ureaplasma Index (U.I.)⁷⁾ に関して

化学療法有効例の $U.I. = (\text{coiled tail の検出率} \%) \times (\text{fuzzy granular tail の検出率} \%)$ は, Urea-

Table 4. 化学療法前位における精子頭部の形態別検出率—化学療法無効例—

形 態	形態別検出率	
	化学療法前 平均値±s.d. %	化学療法後 平均値±s.d. %
oval	50.8±11 %	52.7±12.3 %
round	0.8±0.1 %	0.9±0.2 %
large	0.1±0.01 %	0.1±0.03 %
small	0.5±0.1 %	0.4±0.2 %
amorphous	14.5±3.5 %	16.6±2.7 %
double head	0.5±0.1 %	0.6±0.1 %
immature	2.4±0.3 %	2.7±0.5 %

N.S.

推計学的考察: Wilcoxon signed rank test

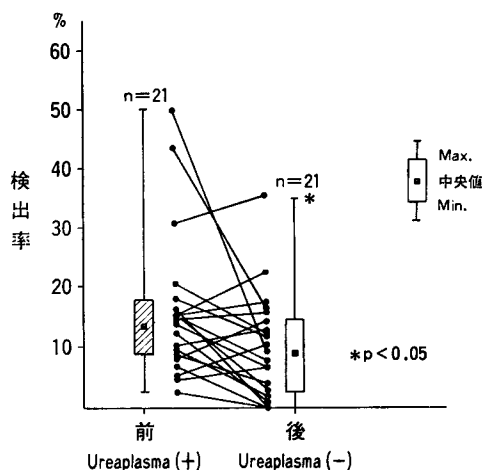


Fig. 5. 化学療法前後における精子尾部の形態学的変化: fuzzy granular tail 検出率—化学療法有効例—

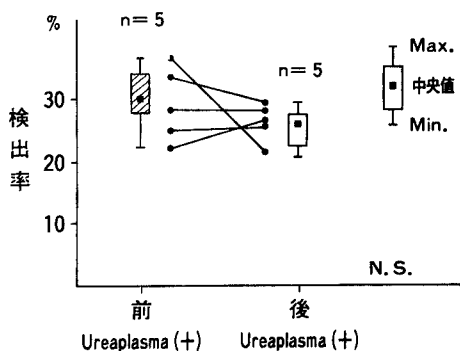


Fig. 6. 化学療法前後における精子頭部の形態学的変化: tapering form 検出率—化学療法無効例—

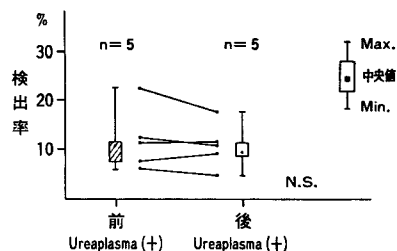


Fig. 7. 化学療法前後における精子尾部の形態学的変化: coiled tail 検出率—化学療法無効例—

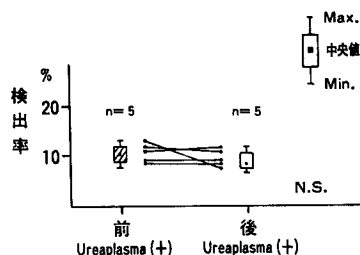
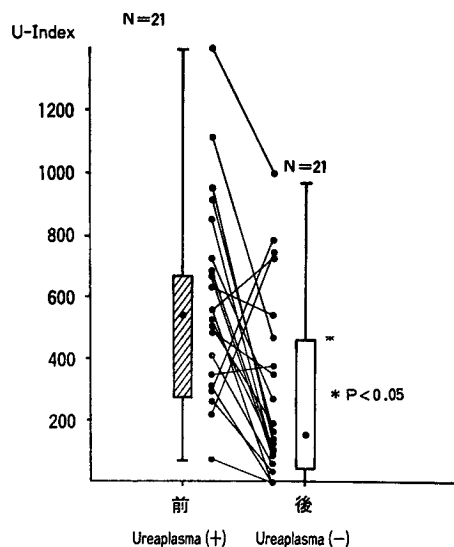


Fig. 8. 化学療法前後における精子尾部の形態学的変化: fuzzy granular tail 検出率—化学療法無効例—



Ureaplasma Index = (coiled tailの%) × (fuzzy granula tailの%)

Fig. 9. Ureaplasma Index —化学療法有効例—

plasma 陽性時の方が陰性時よりも高かった (Fig. 9), しかし, 化学療法無効例の U.I. は治療前後で有意差は見られなかった。

考 察

光学顕微鏡による精子形態の観察, とくに頭部を観察するための代表的な標本作製法として Papanicolaou 法および Test Simplet Slide® 法の 2 法があげられる。Papanicolaou 法は, 固定, 脱水の過程で精子頭部が約 20% 縮小するとの報告をみうけるが, 形態学的研究には十分な情報を与えてくれるものと考えられ, かつもっとも一般的におこなわれている検査法であることから今回は Papanicolaou 法を用いた。

fertile male における精子頭部形態の検出率に関して, Macleod らは oval form 79%, large form 1%, small form 8%, tapering form 4%, duplicate form 1% および amorphous form 7% と報告しているが, 自験例では oval form がやや低率, tapering form と amorphous form が高率の結果となっている。これは, 精子形態の分類方法, あるいは形態識別の基準が諸家によりまちまち^{4,5,15)} であるための結果と考えられる。Fowlks ら³⁾ は Ureaplasma 陽性時には陰性時よりも精子頭部 tapering form や immature form いわゆる stress pattern が増加すると報告しているが今回はそのような成績は認められず, この不一致については今後さらに検討されなければならない。精子尾部の形態に関しては,

Ureaplasma 陽性時の方が陰性時に比べ coiled tail および fuzzy granular tail の検出率が有意に高く, Toth ら⁷⁾ の成績と一致するものであった。Toth や Swenson⁶⁾ の提唱している U.I. に関しては, 今回も Ureaplasma 陽性時の方が陰性時よりも高値を示す症例が有意に多く, 彼らの成績と一致していた。Toth ら⁷⁾ は Ureaplasma 陽性症例では U.I. が 1,000 を超えるものが 70% 以上と報告しているが, 自験例では 21 例中 4 例, 19% であった。化学療法無効例の tapering form, coiled tail および fuzzy granular tail の検出率は, fertile male のそれらより高率であったが, 化学療法前後において有意差は認められなかった。これは, Swenson らの成績と一致していた。

いかなるメカニズムによって精液中 Ureaplasma 陽性者の精子に coiled tail や fuzzy granular tail のような尾部の形態学的変化が生じるかは不明である。Friberg ら^{1,12)} は 1980 年の彼の総説のなかで tail が屈曲したり輪状になるのは Ureaplasma の colony が middle piece に付着するためと述べている。また, 光学顕微鏡で見られる tail の顆粒状の構造物は走査電顕像との比較により Ureaplasma の colony と一致すると述べられている。しかし, 本研究においてあきらかにされたように, Ureaplasma 陰性の fertile male の精子にも coiled tail や fuzzy granular tail がともに検出された。この事実は精子尾部で観察された形態学的変化が, 単純に Ureaplasma によるものと結論しえないひとつの証拠といえるであろう。

ま と め

Ureaplasma が, 不妊と関係を有するかいなかは論の分かれるところであるが, 精子形態との関係では, 精子頭部の形態に影響しないが尾部の形態には影響を及ぼすとの成績であった。Ureaplasma と不妊の関係をあきらかにしていくためには, 今後さらに Ureaplasma 陽性者精子の妊孕性の検定や Ureaplasma の動物感染実験などにより, その病原性を追及していくことが肝要である。

本論文の要旨は第 28 回日本不妊学会総会において発表した。

なお, 本研究は文部省科学研究費一般研究 (B) (58480329) の援助を受けた。

引 用 文 献

- 1) Friberg J : Mycoplasmas and Ureaplasmas in infertility and abortion. Fertil Steril 33:

- 351~358, 1980
- 2) Rehewy MSE : Ureaplasma urealyticum (T-Mycoplasma) in seminal plasma and spermatozoa from infertile and fertile volunteers. *Europ J Obst Gynec Reprod Biol* 8/5: 247~251, 1978
 - 3) Fowlkes DM : T-Mycoplasmas and human infertility correlation of infection with alterations in seminal parameters. *Fertil Steril* 26 : 1212~1218, 1975
 - 4) Macleod J : The significance of deviation in human sperm morphology. *Adv Exp Med Bio* 10 : 481~494, 1970
 - 5) Sobrero AJ : The semen of fertile men 11 semen characteristics of 100 fertile men. *Fertil Steril* 26 : 1048~1056, 1975
 - 6) Swenson CE : Ureaplasma urealyticum and human infertility : The effect of antibiotic therapy on semen quality. *Fertil Steril* 31 : 660~665, 1979
 - 7) Toth A : Light microscopy as an aid in predicting ureaplasma infection in human semen. *Fertil Steril* 30 : 586~591, 1978
 - 8) Toth A : Ureaplasma urealyticum and infertility : The effect of different antibiotic regimens on the semen quality. *Urol* 128 : 705~707, 1982
 - 9) Fowlkes DM : Evidence by scanning electron microscopy for an association between spermatozoa and T-mycoplasmas in men of infertile marriage. *Fertil Steril* 26 : 1203~1211, 1975
 - 10) O'Leary WM : The correction of human male infertility with the presence of mycoplasma T-strains. *Andrologia* 7 : 309~316, 1975
 - 11) Gnarp H : Mycoplasma and human reproductive failure. *Am J obstet Gynecol* 114 : 727~731, 1972
 - 12) Friberg J : Mycoplasma and human reproductive failure. *Am J obstet Gynecol* 116 : 23~26, 1973
 - 13) 守殿貞夫・石神襲次 : マイコプラズマと泌尿生殖器感染症. *Medico* 12 : 4778~4786,
 - 14) 桐山資夫・吉田 修 : Ureaplasma urealyticum 精液感染症にかんする研究. *泌尿紀要* 27 : 623~636, 1981
 - 15) 岩本晃明 : 精子形態の臨床的研究. *日本不妊学会雑誌* 26 : 330~354, 1981

(1984年3月29日受付)